



TITLE:

# 実験的血栓に及ぼす抗凝固剤及び 蛋白融解酵素の影響と線維素溶解 酵素系の変動

AUTHOR(S):

矢本, 潔

---

CITATION:

矢本, 潔. 実験的血栓に及ぼす抗凝固剤及び蛋白融解酵素の影響と線維素溶解酵素系の変動. 日本外科宝函 1961, 30(1): 202-210

ISSUE DATE:

1961-01-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/207193>

RIGHT:

# 実験的血栓に及ぼす抗凝固剤及び蛋白融解 酵素の影響と線維素溶解酵素系の変動

東邦大学医学部外科学教室 (指導 粟田三郎教授)

矢 本 潔

(原稿受付 昭和35年 9月15日)

## STUDIES ON THE EFFECT OF ANTICOAGULANT AND PROTEOLYTIC ENZYME UPON FIBRINOLYSIS AND RECANALIZATION IN EXPERIMENTALLY THROMBOSED ARTERIES

by

KIYOSHI YAMOTO

Department of Surgery, Tohō University, School of Medicine  
(Director : Prof. SABURO AWAZU)

In order to study relations between the recanalization of thrombus and fibrinolysis, Trypsin, Trypsin and Heparin, Warfarin Sodium, Dextran Sulfate, Streptokinase and Plasmin were injected into the rabbit which had been formed the intravascular blood clots in femoral arteries.

The heated Fibrinplate method was employed in examining the process of Fibrinolysis. Recanalization occurred in a half of the cases in which Trypsin, Trypsin and Heparin, Plasmin were used. In these cases, strong change in Fibrinolysis was discernible and a plasmic tendency was observed.

It was assumed that Heparin worked as deterrent to Fibrinolysis. Dextran Sulfate turned plasmic to a slight extent. Warfarin Sodium, on the other hand, remained unchanged. Streptokinase plasmin turned plasmic.

In cases in which intravascular blood clot was recanalized, it was hard to conceive the changing of Fibrinolysis in a certain tendency. However, it was conceivable that Fibrinolysis was vitally related to recanalization.

In the therapy of thrombosis to be conducted in the future, it is considered important to use drug which will dissolve thrombus along with anticoagulant drug.

### 目

### 次

第1章 緒 言

第2章 実験方法

第3章 実験成績

I Trypsin 使用群

II Heparin 使用群

III Trypsin 及び Heparin 併用群

IV Dextran Sulfate 使用群

V Warfarin Sodium 使用群

VI Varidase 使用群

VII Plasmin 使用群

第4章 考 按

第5章 結 論

## 第1章 緒 言

血栓の発生は、手術等の侵襲が生体に加わった結果惹起される血液凝固性の変化、血管壁の変化、血流速度の変化に起因しておこるものである。生体内でこの様な反応が進行した場合、反面これを抑制しようとする因子が働くものと考えられる。この抑制因子の一つとして線維素溶解現象があげられる。血栓の成生はまづはじめに血流中に微細な血液凝塊を生じ次第にこれが発育増大するものと考えられるが、この血栓の発育を遮断し、更に融解するものは、線維素溶解酵素系の作用である。既に成立した血栓の融解、Recanalizationについても線維素溶解酵素系の影響は大なるものと考えられる。この事は同時に、線維素溶解酵素と同様の作用を有する各種の蛋白融解酵素を、血栓に作用させてこれを融解せしめる可能性の展望を与えるものである。

血栓症の治療に抗凝固剤を使用すると、Recanalizationを来し易い事は既に知られているが<sup>1)2)</sup>、抗凝固剤が線維素溶解酵素に如何なる影響を及ぼすものか、各種の蛋白融解酵素を使用した場合はどうなるか、或は線維素溶解酵素系は血栓の融解にどれ程の役割を演ずるものなのか等に就いては明らかでない。

これらの問題を検討する目的をもつて、各種の抗凝固剤、蛋白融解酵素製剤を使用した場合の血栓のRecanalizationと、線維素溶解酵素系の変動との関係を実験的に追求したので、これに検討を加えてここに報告する。

## 第2章 実験方法

実験には健康な成熟家兎を使用した。家兎の股動脈にThrombinを用いて人為的に血管内血液凝塊を作り、これを実験的血栓とした。線維素溶解酵素系の測定は血栓作製前と薬剤投与終了後に採血を行い測定した。

### 実験的血栓作製法

血栓作製には股動脈を約3 cm剥離して分離し、動脈の両端をクレンメにて把握して一時血流を遮断し、血管内にThrombin(持田)10~30単位注入後、中枢端のクレンメをはづし動脈血を流入せしめてThrombinによる血液凝塊の形成をみて後、30分間放置して充分な血栓形成を待ち、末梢側の動脈血の完全な遮断を確認して創を閉じた。その後4乃至5日にわたって薬剤を投与した。薬剤投与後股動脈を再び暴露して先に作製

した血栓の変化を追求した。判定は肉眼的に血管内凝血の変化、末梢側の血流の有無により検討を加えた。

### 測定方法 heated Fibrinplate method Plasminの測定

線維素溶解酵素の測定方法は非常に多いが、線維素溶解現象が詳細に解明されるにつれてより正確なものが採用されている。これはそれらの測定の際に、被検液と基質の中に含まれている活性化因子或は抑制因子の影響を極力除去しなければならないからである。

MacFarlane<sup>3)</sup>の変法は、被検液を倍数稀釈しその溶解最大稀釈濃度を求める方法である。この場合被検液中にはPlasminのみならず抑制物質も含まれているので、できるだけこれを除去する方法が望まれる。この抑制物質の影響を除外するために血清を低いイオン濃度pH 5.2にしその結果生じた沈澱物を溶解して使用する必要がある。基質にはFibrinを使用するのが最も望ましいが、MacFarlaneの変法ではこのFibrinの中に含まれているPlasmin, Plasminogen及びその他の因子の影響を避ける事はできない。このために基質として、Casein, Gelatin, 合成アミノ酸エステル等の使用が考えられた。その一つとしてViscosimeter<sup>4)~6)</sup>による方法がある。これはPlasmin測定法の中で秀れたものの一つであるが、Plasmin測定の際には基質としてFibrinの使用が望まれた。その後Fibrinを85°C, 30分加熱するとPlasminogen等のFibrinの中に含まれている諸因子が消失する事が判り、Fibrinを基質として使用するheated Fibrinplate method<sup>7)~10)</sup>が出現した。本実験ではこの方法を用いたが、これは血清をpH 5.2として被検液の沈澱物を溶解したものを、牛血漿より抽出したFibrinogenを使用して作製したheated Fibrinplate上に滴下し、その溶解面積を求める方法である。

### Fibrinogen 抽出法

屠殺場より採取して来た1/10量のM/10オキサレート加牛血液(2000cc)を3000回転15分間0°Cで遠心沈澱し血漿を分離する。この採取した血漿をあらかじめ硫酸バリウム50gを入れた容器内にビベットで静かに注入し、15分間気泡を立てない様に静かに攪拌してProthrombin及び凝固促進因子等を吸着除去した後0°C, 3000回転15分間遠心沈澱する。次いでこの血漿に同量の冷蒸溜水を加え、更にこれに2/3血漿量の冷飽和硫酸アンモニウムを加え、この際、ガラス棒で攪拌しながら泡がたつたらこれを除く。これを更に室温で3000回転約7分間遠心沈澱し、この沈澱に1/2原血漿

量の生食水を加えてからガラス棒でよく溶解した後、更に原血漿量の冷蒸溜水を加え、これに更に全量の1/3量の冷飽和硫酸を加え室温で3000回転7分間前と同様に遠心沈澱する。この沈澱をpH 7.6のVeronal Bufferに溶解する。Fibrinogen液は使用に際してその1ccをとりガラス棒で攪拌しながらThrombin液を滴下し、析出したFibrinは37°Cに30分間放置し、更に析出しない事を確かめた後沈澱、脱水、乾燥してTorsion balanceで計測してその濃度を調べ、0.15%にして使用した。

#### 被検液

先づ分離血清1ccを蒸溜水で20倍に稀釈し、これに0.5%の醋酸を滴下し硝子電極を用い正確にpH 5.2とし、次いで3000回転10分間遠心沈澱して得た沈澱を使用した。沈澱はpH 7.4 磷酸緩衝液加生理的食塩水で原血清量の1/3に濃縮して使用した。

#### Fibrinplate 作製

0.15% Fibrinogen液9ccを直径9cmのベトリシャーレに入れ、Thrombin(持田)83u/ml 0.2ml宛加え攪拌しながら水平に凝固させ、これを一時間放置した後85°C30分間加熱したものに被検液0.03cc宛滴下し37°C18時間放置したものについて溶解面積の長径、短径の積をもつてその面積をmm<sup>2</sup>の値で表わした。

#### Plasminogen の測定

血液中のPlasminogenを直接定量する事は不可能なのでPlasminogenを活性化してPlasminに変化させて測る必要がある。Plasminogenを活性化するには種々の方法があるが、Streptokinaseを加えて血液中のProactivatorをActivatorに変化させ<sup>10)</sup>、それによりPlasminogenをPlasminに変えるのが適当である。このためにStreptokinaseとしてVaridase(Lederle製)を使用し、heated Fibrinplate methodにより測定した。即ち被検血清1ccを蒸溜水で20倍に稀釈し0.5%醋酸でpH 5.2とし等電沈澱して得た沈澱物をpH 7.4 磷酸緩衝液加生食水で原血清量の1/3に濃縮したものに一定量のVaridase(10単位)を加えこれを被検液とした。被検液中のPlasminogenを活性化するため、

その溶解面積は比較的大となる。

#### Inhibitor の測定

このInhibitorの測定には、基質に一定量のPlasminと被検液とを加えたものを作用させ、Plasminの溶解作用をどの程度抑制するかを見て判定するものである。本実験では1/10単位(Loomis 単位)の人Plasminを加えたものを検体として、heated Fibrinplate methodにより測定した。即ち血清1ccを20倍に稀釈し0.5%醋酸で等電沈澱したものを遠心沈澱して得た上清に、1/10 Loomis 単位の人Plasminを反応させたものを被検液として使用した。

### 第3章 実験成績

予備実験として7例の家兎に股動脈血栓を作製し、1週間放置した後血栓の状態を検討したが、血栓の消失をみたものは認められない。血栓作製によるPlasmin, Plasminogen, Inhibitorへの影響は第1表の如く軽微なものと思われる。

#### I Trypsin 使用群

Trypsin(持田)1回3000単位(pro kg 1500単位)連続4日間筋注を行い、1週後に再び創を開いて先に作製した血栓を検索すると、半数に血栓の融解消失をみた。Trypsin使用前及び1週間後の線維素溶解酵素系の変動を調べると、第2表の如く過半数に於いてPlasminの増加を認め、Inhibitorは4例に増加を示し、4例に減少、他は不変であつた。Plasminogenは過半数に増加をみ、他の3例は不変である。血栓の融解せる5例に就いて線維素溶解酵素系の変動をみると、大体に於いてPlasminの増加、Inhibitorの増加、Plasminogenの増加がみられる。(第2表)

#### II Heparin 使用群

Heparin 25mg(pro kg 12.5mg)4日間連続静注を行つた結果6例中1例に血栓の融解をみた。Plasminは1例に軽度の増加をみたのみで、3例に減少をみ2例は不変であつた。Inhibitorは5例に減少をみ、1例は不変であつた。Plasminogenは6例中4例に増加を示

第 1 表

No.	血 栓	Plasmin			Inhibitor			Plasminogen		
		前 (A)	後 (B)	B/A	前 (A)	後 (B)	B/A	前 (A)	後 (B)	B/A
1	+	72	72	1.00	90	81	0.9	288	276	0.96
2	+	72	70	0.97	156	142	0.91	368	399	1.08
3	+	110	120	1.09	132	144	1.09	210	232	1.10

している。(第3表)

### III Trypsin及びHeparin併用群

Trypsin 3000単位筋注, Heparin 25mg静注4日間投与した。血栓は6例中3例に融解をみた。Plasminは全例に著明な増加を示している。Inhibitorは半数に増加を来しており、Plasminogenは全例に増加している。(第4表)

### IV Dextran Sulfate 使用群

Dextran Sulfate 300mg (pro kg 150mg)連続5日間

静注を行い、5例中1例に血栓の融解をみた。Plasminは4例に増加を来し、Inhibitorは3例に増加をみた。Plasminogenは3例に増加を示している。(第5表)

### V Warfarin Sodium使用群

Warfarinは3-( $\alpha$ -phenyl,  $\beta$ -acetyl)-4-hydroxycoumarinでCoumarin系の誘導体<sup>16)~18)</sup>であるから、Dicumarol, Tromexanと同様に強力な抗凝固作用を有している。Heparinに比して効力の発現や排泄はやゝ遅い。本実験ではこの水溶液を使用した。Warfarin

第2表 Trypsin pro kg 1500 単位 使用

No.	血 栓	Plasmin			Inhibitor			Plasminogen		
		前 (A)	後 (B)	B/A	前 (A)	後 (B)	B/A	前 (A)	後 (B)	B/A
1	—	68	90	1.32	192	123	0.64	306	360	1.18
2	—	63	92	1.46	228	150	0.66	306	360	1.18
3	+	100	110	1.10	210	144	0.69	440	380	0.86
4	+	131	121	0.92	90	121	1.34	418	391	0.94
5	—	48	72	1.50	151	240	1.59	360	336	0.93
6	—	88	99	1.13	120	96	0.8	255	400	1.56
7	+	91.5	99.75	1.06	157.5	150	0.95	418	841	2.01
8	+	151	315	2.08	151	176	1.17	376	648	1.72
9	+	138	208	1.50	80	144	1.80	316	1,089	3.45
10	—	196	245	1.25	120	117	0.97	540	720	1.33

第3表 Heparin pro kg 12.5mg 使用

No.	血 栓	Plasmin			Inhibitor			Plasminogen		
		前 (A)	後 (B)	B/A	前 (A)	後 (B)	B/A	前 (A)	後 (B)	B/A
1	+	216	128	0.59	100	121	1.21	840	960	1.44
2	+	150	175	1.16	100	121	1.21	572	810	1.41
3	+	255	240	0.94	121	110	0.91	303	500	1.65
4	—	176	144	0.82	100	121	1.21	441	624	1.41
5	+	121	110	0.91	360	460	1.28	960	840	0.88
6	+	272	221	0.81	120	143	1.19	360	303	0.84

第4表 Trypsin pro kg 1500 単位 Heparin pro kg 12.5mg 使用

No.	血 栓	Plasmin			Inhibitor			Plasminogen		
		前 (A)	後 (B)	B/A	前 (A)	後 (B)	B/A	前 (A)	後 (B)	B/A
1	—	131	396	3.02	231	300	1.29	600	1,050	1.75
2	—	156	500	3.21	225	256	1.14	900	1,330	1.48
3	+	100	400	4.00	156	156	1.00	675	1,350	2.00
4	+	195	240	1.23	110	81	0.74	437	378	1.32
5	+	110	225	2.04	121	80	0.66	522	650	1.24
6	—	120	180	1.50	110	80	0.73	589	667	1.13

Sodium 15mg (pro kg 7.5mg) 5日間静注を行つた。血栓は1例に融解をみた。Plasmin は概ね変化なく、Inhibitor は2例に増加を来したが、他の3例は変化なく、Plasminogen は概ね変化を認めなかつた。(第6表)

VI Varidase使用群

StreptokinaseとしてVaridase (Lederle 製) を使用した。Streptokinase 10,000単位(pro kg5000単位) 5日間筋注を行つた。全例に血栓融解を認めない。Plasmin は3例に増加を示し、Inhibitor は3例に増加、Plasminogen は3例に増加を来した。(第7表)

VII 人 Plasmin 使用群

人Plasminの精製は次の方法によつた。保存血より Plasma を分離し 25.30% の硫酸で飽和分画し、この分画を透析後pH 5.5 で等電沈澱し、この沈澱を生理的

食塩水に懸濁し、pH 7.0に調整する。pH 7.0で溶性の部分をPlasminogen としVaridase で活性化し人Plasmin を精製した<sup>19)20)</sup>。本実験では2例に Plasmin pro kg 7.5 Loomis 単位、2例に Plasmin pro kg 15 Loomis 単位を連続5日間使用した。他の5例は毎日 Plasmin pro kg 30 Loomis 単位を使用した。

1 Loomis 単位とはpH 7.2のImidazol Bufferで45℃ 2分で0.3%のFibrin 0.6ml を溶解するPlasmin の量を云う。

Plasmin 製剤毎日 pro kg 15単位使用したものの中1例に血栓の融解をみた。Plasmin pro kg 7.5単位では血栓の融解を認めず、線維素溶解酵素系にあたえる影響も少い。Plasmin は pro kg 15単位使用したものに1例増加をみ、Inhibitor は1例に増加、Plasminogen は1例に増加を来したのみである。Plasmin を pro kg 30

第5表 Dextran Sulfate pro kg 150mg 使用

No.	血 栓	Plasmin			Inhibitor			Plasminogen		
		前 (A)	後 (B)	B/A	前 (A)	後 (B)	B/A	前 (A)	後 (B)	B/A
1	+	56.25	110	1.95	42	42	1	210	272	1.29
2	+	68.00	90.25	1.32	45	36	0.8	272	399	1.42
3	+	131.25	143	1.08	110	49	0.45	308	262.5	0.85
4	-	42	90	2.14	203	188.5	0.93	271	300	1.10
5	+	132	272	2.06	200	168	0.84	342	600	1.75

第6表 Warfarin Sodium pro kg 7.5mg 使用

No.	血 栓	Plasmin			Inhibitor			Plasminogen		
		前 (A)	後 (B)	B/A	前 (A)	後 (B)	B/A	前 (A)	後 (B)	B/A
1	+	99	110	1.11	72	42	0.58	221	210	0.99
2	-	221	160	0.72	121	99	0.82	225	225	1.00
3	+	100	100	1.00	64	64	1.00	204	240	1.16
4	+	90	90	1.00	110	115.5	1.05	195	169	0.86
5	+	110	110	1.00	72	72	1.00	210	225	1.07

第7表 Varidase pro kg 5000 単位使用

No.	血 栓	Plasmin			Inhibitor			Plasminogen		
		前 (A)	後 (B)	B/A	前 (A)	後 (B)	B/A	前 (A)	後 (B)	B/A
1	+	80	108	1.25	42	30	0.71	144	210	1.47
2	+	72	36	0.73	49	42	0.85	144	169	1.17
3	+	110	136	1.24	49	36	0.73	140	130	0.93
4	+	49	63	1.28	25	36	1.44	170	180	1.58
5	+	64	72	1.12	42	56	1.33	210	210	1.00

第 8 表 1, 2. 人-Plasmin pro kg 7.5単位使用 3, 4. 人-Plasmin pro kg 15単位使用

No.	血 栓	Plasmin			Inhibitor			Plasminogen		
		前 (A)	後 (B)	B/A	前 (A)	後 (B)	B/A	前 (A)	後 (B)	B/A
1	+	75	80	1.06	63	63	1.00	150	150	1.00
2	+	89	100	1.12	72	56	0.77	225	220	1.02
3	—	99	132	1.33	45	54	1.20	238	238	1.00
4	+	72	90	1.12	110	120	1.00	195	240	1.28

単位を使用した例では 5 例中 3 例に血栓の融解をみ、1 日より 5 日まで使用したいづれの例でも、Plasmin の著明な増加を来している。(第 8, 第 9 表)

第 4 章 考 按

蛋白融解酵素の一つである Trypsin を非経口的に使用した場合、動物実験で家兎及び犬の静脈血栓を融解させ線維素溶解を促進する事を Innerfield<sup>11)</sup> が述べ、ついで Innerfield<sup>12)</sup> は Trypsin を臨床的に 74 例の血栓性静脈炎に使用し 71 例に満足すべき結果を得た。Trypsin は急性炎症を速かに抑制し、疼痛、浮腫、熱感発熱、白血球増加等の症状を緩解すると云う。この臨床効果は、Trypsin 本来の蛋白融解作用よりもむしろ線維素溶解の賦活によるものであらうと推定している。Trypsin の作用は少量で起こり得るもので、Trypsin が血中の Plasminogen を活性の Plasmin に転ずるものであると云う<sup>12)13)</sup>。この様に血栓を主とした炎症症状に Trypsin を使用すると、血中の蛋白融解酵素を活性化せしめ、同時に血管の透過性を亢進し、組織間の浮腫を消失せしめ、急性炎症部に於ける代謝障害を改善させると云う<sup>15)</sup>。

本実験では Trypsin の使用前と使用後を比較すると、線維素溶解酵素系の変動は全体として plasmic であり、同時に Plasmin, Plasminogen の増加が対称的に Inhibitor の増加を来していると云える。この様に Trypsin が実験例の半数の血栓を融解させた事、線維素溶解酵素系に大なる影響をあたえ plasmic な傾向をあたえる事は、Trypsin が血栓症の治療に有効で臨床実績を裏づけるものである。

Heparin は 1916 年に Howell & Mclean により犬の肝臓から分離されたもので、その化学的組成は Mucopolysaccharid-poly-schwefelsäureester である。Heparin は水溶性、耐熱性で、単独では凝固阻止作用を発揮せず、Cofactor として蛋白体を必要とし、その Cofactor に 2 種類あつて Cofactor I は Heparin と共

第 9 表 人-Plasmin pro kg 30 単位使用

No.	血 栓	Plasmin			注 射 日 数
		前 (A)	後 (B)	B/A	
1	+	64	134	2.1	1 日
2	—	80	240	3.3	2 //
3	+	96	210	2.2	3 //
4	—	72	125	1.7	4 //
5	—	64	108	1.7	5 //

に Heparin-antiprothrombin を形成して Prothrombin 作用を阻止し、Cofactor II は Heparin と共に Heparin-antithrombin を形成して Thrombin 作用を阻止する、この様に Heparin の凝固阻止作用は、これが多くの凝固因子に作用して Fibrinogen の Fibrin への転化を阻止するもので、その作用機序は複雑である。Heparin は速効性であり速かに血液凝固を遅延せしめるが、数時間で Heparinase によつて破壊される。血栓の生成は、血液凝固性の変化、血管壁の変化、血流の変化等によつて惹起されるものであるから、血液の凝固機転を人工的に阻害することにより、血栓の発育伸展を抑制する必要がある。このために Heparin, Dicumarol 等の抗凝固剤を使用する必要があり、早期に適用すれば効果をあげる事ができる<sup>15)21)22)23)</sup>。

Heparin の線維素溶解に及ぼす影響をみると Jacques<sup>24)</sup> は Heparin がなんらの影響を及ぼさないか、或はもしなんらかの作用があるとすれば抑制的に働くものであらうと云う。Vinazzer<sup>25)</sup> は in vitro で 1, 5, 25  $\mu\text{g}/\text{cc}$  の濃度の Heparin は線維素溶解の増加を来すと云うが、これに反して Astrup, Crookston<sup>26)</sup> は 200 ~ 5000  $\mu\text{g}/\text{cc}$  でつよい抑制を来すと述べている。Von Kaulla<sup>27)</sup> は高濃度の Heparin は線維素溶解に抑制的に作用すると云つている。本実験の結果では Plasmin の増加をみたものではなく、むしろ減少の傾向を示している。Inhibitor も減少を示している。

Heparin と Trypsin を併用した場合には、Trypsin



単独使用例に比して一段とつよくPlasmin系の活性化を来している。前述の様にHeparinは線維素溶解系に抑制的に働いているので、Plasmin系活性化に主要な役割を果すのはTrypsinの作用によるものと思われる。この両者の併用は血栓症の治療に関して、抗凝固剤で血栓の伸展を予防し、蛋白融解酵素で積極的に血栓を融解させて行くと言う方向を示唆するものである。

Dextran SulfateはHeparinに似た多糖の硫酸エステルで合成抗凝固剤の一つである<sup>28)29)</sup>。強力な抗凝固作用を有するがその本態については充分知られていない。その構造の類似性から考えて、Heparinと同様の作用を有するものと考えられる。即ち血小板からThromboplastinの遊離を阻止し、又血清中のCofactorと共にAntithrombin作用を現わすものである。Dextran Sulfateの線維素溶解に及ぼす影響をみると、本実験に於いては抗凝固剤としての目的で使用する用量に比して、極めて大量を投与したが、その結果は概ねPlasmin系の活性化を示す傾向を示しているが、その作用はTrypsinの如く強くはない。

Warfarin SodiumはCoumarin系抗凝固剤の一つであるが、その線維素溶解に対する影響は軽微なものと考えられる。

Streptokinaseは強力なPlasmin系活性化の作用をもつ薬剤であり血栓症の治療に用いられている<sup>30)~32)</sup>。この作用は血中のProactivatorをActivatorに変て、これがPlasminogenに作用してPlasminに変えるものと云われている<sup>14)</sup>。本実験の結果では線維素溶解系にあたる変動は少なかつたが、これは使用量に関係があつたのではないかと考えられる。しかし全般的には軽度でplasmicな傾向をとつている。

Plasmin製剤が血栓症の治療に有効な事を実験的に検討した報告や<sup>33)~36)</sup>これを治療に用いた報告がなされている<sup>37)~39)</sup>。血栓が比較的新鮮で血液凝塊の時期にこの凝血を融解させる目的でPlasminを使用する事は合理的である。本実験の成績ではpro kg 7.5単位pro kg 15単位使用の場合は他の薬剤に比して差異を認めなかつたが、これは使用量が充分でなかつたためと思われる。

Plasmin製剤をpro kg 30単位使用した場合は第9表の如く著しく線維素溶解の増加を認める。Kenneth<sup>37)</sup>もPlasmin投与による線維素溶解能の強さと持続期間は、投与されたPlasminの総量に併行すると云つている。血栓の消失もpro kg 30単位使用の場合は過半数に及んでいる。

Trypsinを血栓症の治療に用いた場合、血中の抗Trypsin因子の存在を無視し得ない。同時に大量使用の場合は血液凝固機転に影響を及ぼす可能性がある。それ故血栓を積極的に融解させる目的ではPlasminが最も有効であり、且安全な薬剤と考えられる。同時に抗凝固剤を併用すれば一層の効果を期待し得るものと考えられる。

## 第5章 結 論

家兎の股動脈に実験的血栓を作製し、これにTrypsin, Heparin, Warfarin Sodium, Dextran Sulfate, Varidase, Plasminを夫々使用し血栓の融解及びそれに伴う線維素溶解酵素系の変動を検討した。Trypsinを使用した場合半数に血栓の融解をみた。同時に線維素溶解酵素系に大なる変動をみた。これはHeparinを使用した場合一層著明である。Plasmin製剤を大量投与すると過半数に血栓の消失を来し線維素溶解能は亢進する。その他Dextran Sulfate, Varidase使用例に軽度でPlasminの増加を来した。InhibitorはPlasminの増加に比例して増加する傾向を示している。PlasminogenはWarfarin Sodium, Plasmin製剤使用例を除いては全例に増加の傾向がみられた。Heparinは線維素溶解系に対して抑制的に働くものと思われる。一方Warfarin Sodiumは殆ど影響を認めない。血栓の融解せる例では、線維素系の変動に一定の傾向は認め難い。しかしながらTrypsin, Plasmin製剤使用群にみられる様に、線維素溶解酵素系に大なる影響をあたえplasmicな変動を生ぜしめる薬剤が効果のある点を考えるならば、血栓の融解に線維素溶解酵素系が重要な関与をしている事を理解し得る。なお血栓症の治療に関しては、抗凝固剤使用のみでなく、積極的に血栓を融解せしめる事が重要で、このためにはPlasminの使用が考えられ、これが今後の血栓症治療の方向となるであろう。

以上稿を終るにあたり終始御指導、御鞭撻を賜つた恩師栗津教授、小平教授並びに長山講師に深甚なる謝意を表する。

## 文 献

- 1) Wright, H. P., M. M. Kubik and M. Hayden: The Influence of Anticoagulant administration on the Rate of Recanalisation of Experimentally Thrombosed Veins. Brit. Jour. Surg. 40, 163, 1952.
- 2) Wright, H. P., M. M. Kulik and M. Hayden:



- Recanalization of Thrombosed Arteries under Anticoagulant Therapy. Brit. Med. J., 1, 1021, 1953.
- 3) 畔柳武雄, 林圭雄: 線維素溶解酵素, 日新医学, 38, 684, 昭26.
- 4) Christensen, L. R. : Streptococcal Fibrinolysis : A proteolytic reaction due to a serum enzyme activated by Streptococcal fibrinolysin J. Gen. Physiol., 28, 363, 1945.
- 5) Christensen, L. R. : The activation of plasminogen by Chloroform. J. Gen. Physiol., 30, 149, 1946.
- 6) Christensen, L. R. & MacLeod B. M. : A proteolytic enzyme of serum : Characterization, activation and reaction with inhibitors. J. Gen. Physiol., 28, 559, 1945.
- 7) Lassen, M. : Heat denaturation of plasminogen in the fibrin plate method. Acta Physiol. Scand. 27, 371, 1952.
- 8) Permin, P. M. : Properties of the fibrinolytic-fibrinolysin system. Nature, 160, 571, 1947.
- 9) Astrup, T. & Müllertz, S. : The Fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity, Arch. Biochem. & Biophys. 40, 346, 1952.
- 10) 森田昌隆: Plasmin の意義に関する基礎的研究, アレルギー, 5, 341, 昭32.
- 11) Innerfield, I., A. Schwarz and A. Angrist : Intravenous Trypsin-Its Anticoagulant, Fibrinolytic and Thrombolytic Effects. J. of Clin. Invest., 31, 1049, 1952.
- 12) Innerfield, I., A. Schwarz and A. Angrist : Parenteral Administration of Trypsin, The J. of Am. Med. Asso. Vol 15, No.5, 1953.
- 13) Lewis, J. H., and J. H. Ferguson : Studies on a proteolytic enzyme system of the blood. V. Activation of Profibrinolysin by Trypsin. Am. J. Physiol., 170, 636, 1952.
- 14) Müllertz, S. : Activation of Plasminogen, Ann. New York Acad. Sc. 68, 38-51 (Aug) 1957.
- 15) 神谷喜作: 静脈血栓症と血栓性静脈炎 外科, 20, 811 1958.
- 16) Samuel Baer, M. D., M. William Yarrow, M. D., Charles Kravitz, M. D. : Clinical Experiences with Warfarin Sodium (Coumadin) as an Anticoagulant. J. A.M. A. June 7, 1958.
- 17) Dallas V. Clatanoff M. D. : Clinical Experience with Coumarin Anticoagulants Warfarin and Warfarin Sodium. Arch. of Inter. Med. 94, 213, 1954.
- 18) Lieutenant Roy W. Holmes MC, U.S. N. Suicide Attempt with Warfarin A Bishydroxycoumarin-like Rodenticide J. Am. Med. Assoc. 148, No.11, 935, 1952.
- 19) Loomis, E. C., George, C., Jr. and Ryder, A. : Fibrinolysin : nomenclature, unit, assay preparation and properties. Arch. Biochem. 12, 1, 1947.
- 20) Leandro M. Tocantins, M. D. : The Coagulation of Blood Methods of Study 1955.
- 21) Loewe, L., E. Hirsch and D. M. Grayzel : The Action of Heparin on Experimental Venous Thrombosis. Surgery, 22, 746, 1947.
- 22) Rabinovitch, J., and B. Pines : Effect of Heparin on Experimentally Produced Venous Thrombosis. Surgery, 14, 669, 1943.
- 23) Rabinovitch, J., and B. Pines : Effect of Heparin and Penicillin in Experimentally Produced Thrombophlebitis. Arch. Surgery, 58, 163, 1949.
- 24) Jaques, L. B. : In Blood Clotting and Allied Problems. Transactions of the 4th Conference, Josiah Macy Jr. Foundation. New York 1951, p. 45.
- 25) Vinazzer, H. : Untersuchungen über die fibrinolytische Wirkung des Heparins. Wien. Ztschr. inn. Med. 32, 167, 1951.
- 26) Astrup, Crookston, J. and McIntyre, A. : Proteolytic enzymes in blood. Acta physiol. scand. 21, 238, 1950.
- 27) Kurt N. von Kaulla and Tom S. McDonald : The Effect of Heparin on Components of the Human Fibrinolytic System. Blood 13, 8, Aug 1958.
- 28) 佐々木勲, 川井一夫, 佐藤太一郎, 竹本利雄, 岡 繁宏: Dextran sulfate の毒性について 日本血液学会雑誌20巻, 3号補冊 306頁
- 29) 川井一夫, 佐々木勲, 竹本利雄, 岡繁宏: 合成抗凝固剤デキストラン硫酸の使用終験: 日本血液学会雑誌 21, 2, 補冊 292 (昭33)
- 30) Johnson, A. J., and W. E. Tillett : The Lysis in Rabbits of Intravascular Blood Clots by the Streptococcal Fibrinolytic System (Streptokinase). J. of Exper. Med., 95, 449, 1952.
- 31) Tillett, W. S. : Johnson A. J. and McCarty, W. R. : Intravenous Infusion of Streptococcal Fibrinolytic Principle (Streptokinase) into Patient. J. Clin. Invest. 34, 169-185 (Feb) 1955.
- 32) Johnson, A. J., Fletcher, A. P., McCarty, W. R. and Tillett, W. S. : Effects in Patients of intravenous Infusions of Purified Streptokinase Preparations. Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 94, 254-258 (Feb) 1957.

- 33) Clifton, E. E., Grossi, C. E. and Cannamela, D. A. : Lysis of thrombi produced by Sodium morrhuate in the femoral vein of dogs by human plasmin (fibrinolysin). *Ann. Surg.* **139**, 52, 1954.
- 34) Clifton, E. E., D. A. Cannamela and C. E. Grossi : In vivo Studies of Human Plasmin intravenous Injection in Dogs and Rabbits, *J. of applied Physiology*, **6**, 143, 1953.
- 35) Ambrus, J. L. and others : Clinical and Experimental Studies on Fibrinolytic Enzymes. *Ann. New York Acad. Sc.* **68**, 97-137(Ang) 1957.
- 36) Grossi, C. E. and Clifton, E. E. : Lysis of Arterial Thrombi in Rabbits and Dog by Use of Activated Human Plasminogen (Fibrinolysin) (Plasmin), *Surgery* **37**, 794-802 (May) 1955. Reference 12.
- 37) Kenneth M. Moser, M. D., Washington, D. C. : Thrombolysis with Fibrinolysin(Plasmin)-New Therapeutic Approach to Thromboembolism *J. A. M. A.* Vol **167** No.14, 1695-1704, 1958.
- 38) Bernard J. Sussman, M. D. and Thomas S. P. Fitch, M. D., Plainfield, N. J. : Thrombolysis with Fibrinolysin in Cerebral Arterial Occlusion *J. A. M. A.* Vol **167**, No.14, 1705-1709, 1958.
- 39) Kenneth, M. Moser, M. D. : Effects of intravenous administration of Fibrinolysin (Plasmin) in Man. *Circulation* Vol **XX**, No. 1, July 1959.
- 40) Shulman, N. R. : Studies on Inhibition of Proteolytic Enzymes by Serum. *J. Exper. Med.* **95**, 571-618 (June) 1952.